第 37 卷 第 3 期　　昆虫学报　　Vol. 37, No. 3
1994 年 8 月　　ACTA ENTOMOLOGICA SINICA　　Aug., 1994

谷蠹和米象对磷化氢抗性遗传的研究*

李雁声　李文质　黎万武　吴秀琼
(国内贸易部成都粮食贮藏科学研究所，成都　610031)

摘要　本文就谷蠹 *Rhyzopertha dominica* 和米象 *Sitophilus oryzae* 对磷化氢的抗性遗传进行了研究，分别对两个种的实验室敏感品系和粮仓现场采集的抗性品系作为亲本进行杂交。同时测定了各自的亲本及其 F_1 杂种、F_1 对抗性亲本回交和 F_2 混交后代的剂量-死亡率反应曲线，并对它们的结果进行了遗传分析。结果指出，谷蠹和米象的 F_1 杂种对磷化氢的抗性遗传都为不完全隐性，各自的显性度 (D) 分别是 −0.768 和 −0.348。同时 F_1 回交和 F_2 混交的观察值和计算值之间的 X^2 分析也表明，抗性表现为一个以上的常染色体因子遗传，但是主要是受隐性因子所控制。

关键词　谷蠹　米象　磷化氢　杀虫剂抗性遗传

在过去的三十年中，贮粮害虫对常用杀虫剂发生的抗性，从六十年代 3 种发展至目前的 31 种。对 12 种熏蒸剂和 18 种有机氯杀虫剂、14 种合成除虫菊酯、43 种有机磷杀虫剂、5 种氨基甲酸酯杀虫剂和 5 种昆虫激素类似物等产生了不同程度的抗性 (Champ, 1985)。最近十多年来，特别是几种主要贮粮害虫对磷化氢的抗性已有很多报道 (Champ 和 Dyte, 1976; Tyler 等, 1983; Price, 1985; Borah 等, 1979; Taylor, 1989; 李雁声等, 1983; 蒋中柱等, 1989)。最典型的例子为孟加拉国，谷蠹 (*Rhyzopertha dominica*) 对磷化氢已产生了严重的抗性品系，成虫在磷化氢推荐剂量的 100 倍，7 天时间内才能达到完全彻底的防治效果；其它种类如锯谷盗、扁谷盗和赤拟谷盗也有不同程度的抗性。Taylor(1989) 的报道还指出，在南亚和非洲等热带地区，118 个品系中已有 64 个发生抗性，而且严重的抗性品系约占 60%。据近几年的考察，国内也有发现米象 *Sitophilus oryzae*、谷蠹和扁谷盗对磷化氢的高抗性品系，尤其以谷蠹和扁谷盗为最普遍，磷化氢对扁谷盗几乎完全失去防治效果。

害虫抗性的形成是个种群遗传问题，也就是说，在一个敏感种群内部存在着抗性基因，通过杀虫剂的选择作用，使其基因频率增加到一个显著程度，它的形成要受许多因子的影响，这些包括遗传学因子、生物学因子和操作因子 (Georghiou 等, 1977 a、b)。

贮粮害虫抗性的遗传国外曾有过一些研究，但是仅仅限于谷物保护剂 (Champ, 1967、1969; Attia 等, 1981; Collins, 1986; Heather, 1986)，国内在这方面几乎还是空白。磷化氢是目前国内防治贮粮害虫的主要杀虫剂，80% 的贮粮依靠它进行熏蒸处理，延缓和防止害虫对它的抗性发展是当前迫切的需要。研究害虫抗性遗传的有关因子是了解害虫抗性发展的关键，近年来通过计算机模拟分析害虫抗性的显性结果、抗性基因的起始频率、害虫行为、敏感个体的移入和种群增殖率等，这些都证明会对害虫抗性发生影响，

本文于 1992 年 3 月收到。
* 本文承蒙中国科学院上海昆虫研究所唐振华先生，北京大学生物系戴灼华先生、杨俭美先生和李松岗先生提出宝贵意见，特此致谢。

而且可以通过某些方法使其抗性选择作用消除到最低限度。因此，本文的目的是为研究贮粮害虫抗性治理打下基础。

材料和方法

1. 实验昆虫品系

谷蠹敏感品系（SS） 于1985年从四川宜宾五粮液酒厂酒曲中采集，一直在实验室饲养，未经任何杀虫剂处理。

谷蠹抗性品系（RR） 于1986年从江西南昌市粮库采集，样品由江西省粮科所提供，实验室收到后经用抗性区分浓度（0.03mg/L）测定死亡率大约为8.5%，后来在实验室继续用磷化氢选择5代，纯化为高抗性品系后再与敏感品系进行杂交实验。

米象敏感品系（SS） 于1983年从西藏樟木口岸采集，一直在实验室饲养，未经任何杀虫剂处理。

米象抗性品系（RR） 于1977年由广东省粮科所提供，该品系采集于广东梅县粮食仓库。样品收到后经过单独配对再用磷化氢筛选纯化，明显成为均质的高抗性品系。

上述品系中，谷蠹饲养于32℃、米象饲养于28℃和相对湿度均为60—70%的条件下。

2. 遗传杂交

谷蠹杂交 敏感品系（SS）和抗性品系（RR）进行正反交，每次采用不同性别的成虫100对，获得子一代（F_1），然后 F_1 再与抗性亲本进行回交（F_1-BC）和 F_1 自行混交（F_2）。由于谷蠹在成虫阶段性别无法区分，因此，鉴定性别的方法是在蛹期进行（Halstead, 1963）。

米象杂交 由鉴定性别后的敏感品系（SS）和抗性品系（RR）各100对，依次进行了18组正反交、回交和混交，其诱导分离的详细程序见表3。

以上两种虫种杂交后的 F_1、F_2 及其回交后的子代均进行了敏感度曲线分布范围的测定。谷蠹采用不同的浓度作为反应的变量，暴露时间为48小时。米象在磷化氢高浓度时，由于存在"保护性昏迷"，它对磷化氢的反应仅在一定的有限范围，死亡率、机率值同对数浓度保持直线关系，故此，以固定在它的抗性区分浓度（0.04mg/L）用不同的暴露时间作为反应的变量，测定它在磷化氢中致死的时间分布范围。两种虫种的正反交实验是用以鉴定它们的抗性显隐性程度、判别是否存在抗性的性连锁关系。回交（F_1-BC）和混交 F_2 实验是用以鉴定 LD-P 线呈现的形状及其表型分离的相对比例，以此确定抗性遗传是受单因子或多因子所支配。

3. 统计分析

在两种虫种的各项杂交中，浓度或时间反应曲线均采用机率值法（Finney, 1952）进行统计分析。全部实验最少设置5个剂量，每个剂量设3个重复，每个重复采用40头成虫。

抗性的显隐性程度（D）根据下式求得：

$$D = \frac{2LC_{50}(RS) - LC_{50}(RR) - LC_{50}(SS)}{LC_{50}(RR) - LC_{50}(SS)}$$

式中 LC_{50} 均为对数值。

当子一代（F_1）具有与显性表型（RR）一样高的抗性时，则该抗性为完全显性，反之，当敏感度范围与隐性表型（SS）相同时，则该抗性为完全隐性，若 F_1 的 LC_{50} 恰好为隐性纯合子和显性纯合子表型的平均值时，则抗性为半显性，若 F_1 界于半显性和隐性表型之间，抗性则为不完全隐性，若 F_1 界于半显性和显性表型之间，抗性则为不完全显性。

本文子一代回交（F_1-BC）和混交（F_2）的反应曲线的观察值同单因子遗传假设的计算值之间的差别均进行了卡方（X^2）值分析，其单因子遗传假设的比例依下式计算：

$$F_1-BC_{(SR♂\times RR♀)}: y_X = W_{(SR)}0.5 + W_{(RR)}0.5$$

$$F_{2(SR♂\times SR♀)}: y_X = W_{(SS)}0.25 + W_{(SR)}0.5 + W_{(RR)}0.25$$

式中 Y 为给定浓度或时间（X）的计算值，W 为 SS、SR 和 RR 各自的基因型在给定浓度或时间（X）的观察值，计算时将各自取得的反应回归式分别代入即可。

米象的子一代回交（F_1-BC）和混交（F_2）除按照上述方法计算外，18 组杂交均根据曲线斜率及观察的死亡率代换为正态分布面积，将反应时间代换为对数值作图。

卡方值由下式计算：$X^2 = \dfrac{(r-np)^2}{np(1-p)}$

r 为实验观察值，np 为计算值，n 为实验昆虫头数，p 为计算死亡率。

结　　果

1. 谷蠹对磷化氢的抗性遗传分析

谷蠹对杀虫剂的抗性遗传很少报道。有关的资料仅有一种半显性的体色突变型可供参考（Champ 和 Dyte，1976）。马拉硫磷的专一抗性型与之发生连锁。谷蠹有 8 对常染色体和 1 对性染色体。根据正反交的子一代 F_1（SR 和 RS）对磷化氢的反应数据可

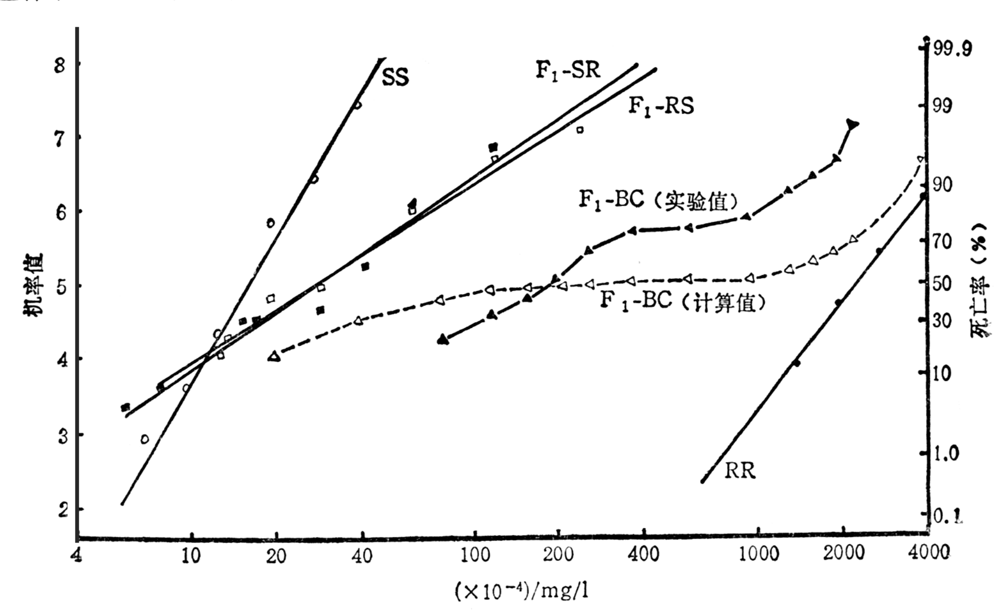


图 1　谷蠹对磷化氢抗性遗传观察值同回交计算值的比较

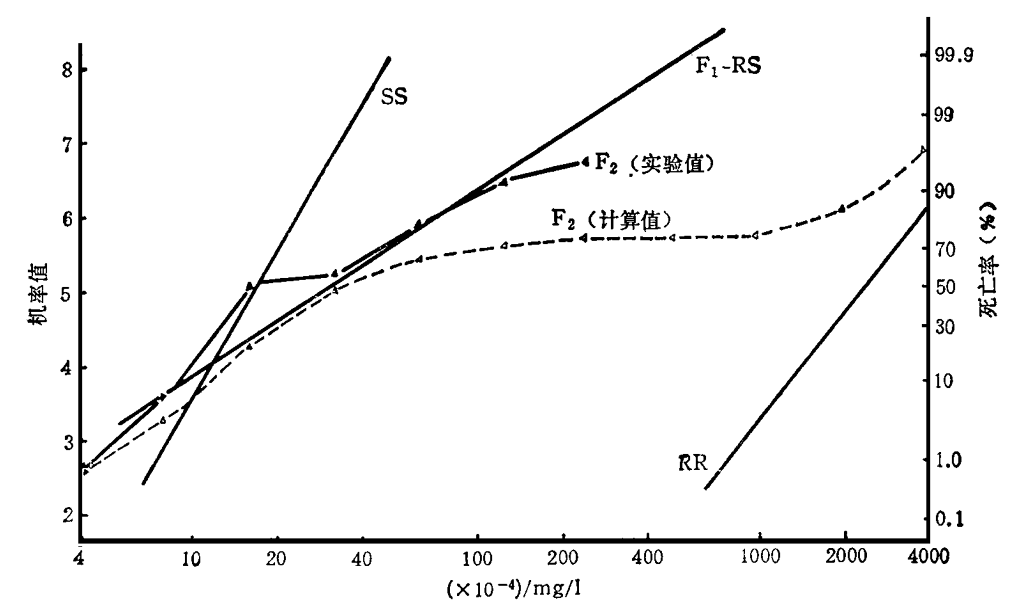


图 2　谷蠹对磷化氢抗性遗传子二代混交试验值同计算值的比较

以提供谷蠹对磷化氢抗性遗传的显隐性程度以及是否抗性同染色体发生性连锁的分析。根据子一代回交（F_1-BC）和混交（F_2）测得对磷化氢的反应曲线(图 1、2 和表 1)，可以提供单因子或多因子遗传的假设。如果抗性遗传是受单因子支配，那么在回交（F_1-BC）的反应曲线上，于死亡率 50%（机率值为 5)处，以及混交（F_2）的反应曲线上，于死亡率的 25%（机率值为 4.326）或 75%(机率值为 5.675）处，都将出现明显的拐点，否则认为是属于两个以上因子的遗传。正反交 F_1 对磷化氢反应的结果指出，F_1 在 LC_{50} 处(SR 为 0.00286mg/L，RS 为 0.00293mg/L）同敏感品系亲本（LC_{50} 为 0.00165mg/L）比较，结果非常接近(抗性系数分别为 1.7 和 1.8)。显性度（D）= −0.768，其结果为不完全隐性遗传，抗性表现主要是受隐性因子所控制。利用抗性区分剂量 0.0052mg/L（在敏感品系死亡率的 99.9% 处）代入正反交 F_1 的 LD-P 线进行计算，F_1 的反应范围大约在 76%（SR 为 74%，RS 为 78%）与敏感亲本的 LD-P 线重叠。在正反交（SR 和 RS）的杂种之间也没有明显差别，抗性为常染色体遗传，不存在母体效应。回交（F_1-BC）的反应曲线指出，在 50% 的死亡率处没有拐点出现，单因子遗传的假设被实验结果所进行的卡方（X^2）分析否定（$X^2 = 555.3$, df = 9, $P<0.05$)。反应曲线同塚本增久(1963)描述的受一个隐性因子和一个显性因子所控制的遗传理论曲线几乎相似。最后，混交（F_2）的反应曲线也证实抗性是受一个主要因子控制，在 75% 的死亡率处没有出现拐点的迹象，单因子遗传的假设也被实验结果进行的统计分析所否定（$X^2 = 129.4$，df = 4，$P < 0.05$)。

2. 米象对磷化氢的抗性遗传分析

米象对 DDT 的抗性遗传已见于 Champ(1976) 的报告，米象对 DDT 的抗性已被证实是受一个以上因子控制的性连锁、部分显性遗传，可能还存在分离偏差和某种未决定的修饰因子。米象有 10 对常染色体和 1 对新性染色体。虽然米象对磷化氢的抗性早已

表 1　谷蠹的敏感品系和抗性品系及其杂交子代对磷化氢的反应*

品　系	实验虫数	LC_{50}(mg/L) (95% 置信界限)	$LC_{99.9}$	曲线斜率及其标准偏差	抗性系数
宜宾 (SS)	823	0.00165(0.00156—0.00175)	0.0052	6.241(±0.595)	—
南昌 (RR)	474	0.23330(0.20490—0.26570)	0.9812	4.954(±0.251)	141.4
F_1(1)(SR)	1196	0.00286(0.00245—0.00335)	0.0464	2.553(±0.208)	1.7
F_1(2)(RS)	1681	0.00293(0.00268—0.00319)	0.0531	2.455(±0.158)	1.8

* 暴露时间为 48 小时。

普遍发现，但是有关它的抗性遗传一直尚未有人报道。米象实验正反交的 F_1 (SR 和 RS) 对磷化氢的反应，当利用抗性的区分剂量 28.9 小时(在敏感品系死亡率的 99.9% 处)代入 F_1 的曲线，分别在 96% 和 97% 的范围同敏感亲本的 LD-P 线几乎完全相互重叠(见图 3)。表 2 中 F_1 在 LT_{50} 处 (SR 为 15.8 小时，RS 为 15.6 小时)同敏感品系(LT_{50} 为 7.6 小时)比较，结果也几乎接近(抗性系数均为 2.1)。显性度 (D) = −0.348，界于半显性和隐性表型之间。正反交的杂种之间没有显著差别，抗性为常染色体遗传，不存在母体效应。回交 F_1-BC 的反应曲线表明，单因子遗传的假设被实验结果进行的卡方分析否定 ($X^2 = 80.48$, df = 7, $P < 0.05$)，但是在 50% 的死亡率处却没有拐点出现。最后，混交 (F_2) 的反应曲线表明也没有在 75% 的死亡率处出现拐点的迹象，并且单因子遗传的假设也被实验结果进行的卡方分析否定 ($X^2 = 290.8$, df = 7, $P < 0.05$) (见图 3、4)。杀虫剂的抗性是一种不可见的遗传性状，并无固定的形态特征，为了研究杀虫剂抗性的遗传方式，往往只能根据反应曲线采用直接推理方法。塚本增久(1963)曾经对单因子、双因子和多因子抗性遗传所表现的剂量-死亡率反应曲线的形状进行了详细的分析，他指出：

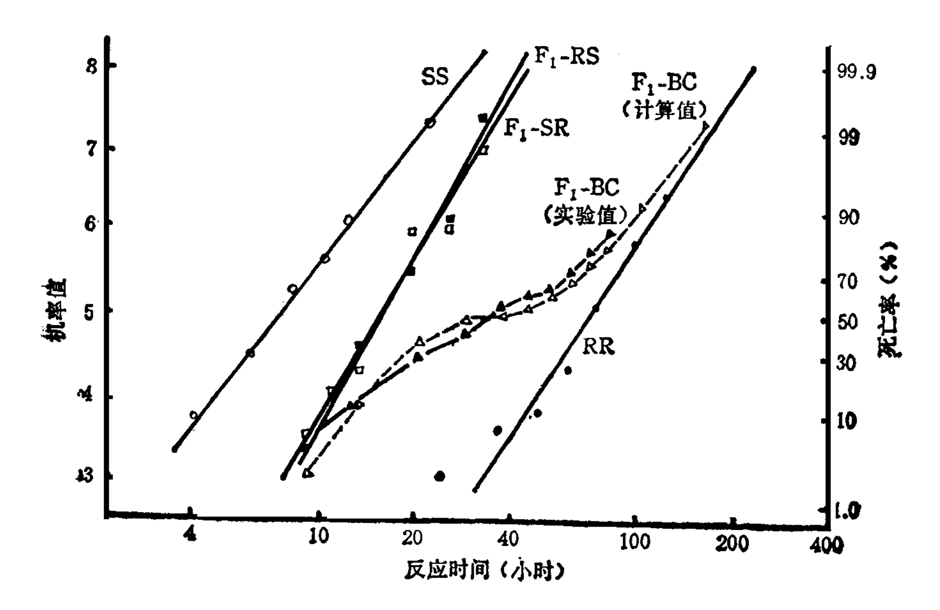


图 3　米象对磷化氢抗性遗传回交观察值同计算值的比较

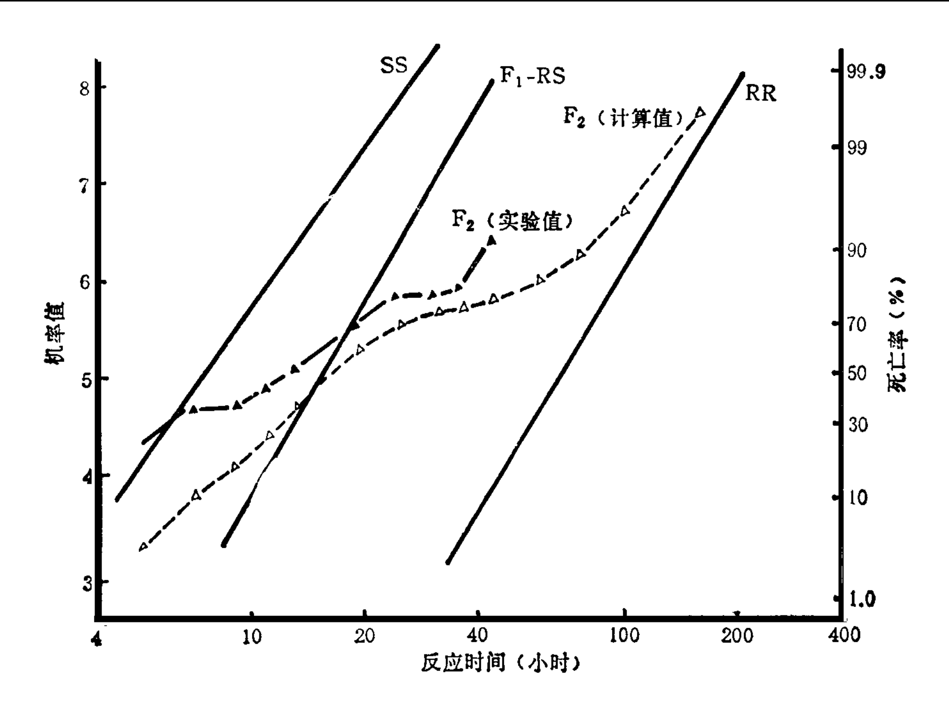


图 4 米象对磷化氢抗性遗传子二代观察值同计算值的比较

利用对数剂量-死亡率机率值回归曲线分析，由于敏感品系和抗性品系各自的基因型在它们对杀虫剂的反应范围彼此多少有些重叠，如果杂交的子二代的反应曲线的坡度较小，而且又没有明确的区分剂量（拐点）可供采用时，往往也能使毒理学家导致某种错误的结论，所以，必须要对获得的资料进行反复的验证才能得到正确的答案。

表 2 米象敏感品系和抗性品系及其杂交子代对磷化氢的反应*

品 系	实验虫数	LC_{50}（小时）（95% 置信界限）	$LC_{99.9}$	曲线斜率及其标准偏差	抗性系数
16-1 (SS)	640	7.6(7.0—8.1)	28.9	5.315(±0.17)	—
广-S-12(RR)	793	69.1(65.4—73.1)	226.7	5.991(±0.69)	9.1
F_1(1)(SR)	715	15.8(14.8—16.7)	45.8	6.669(±0.50)	2.1
F_1(2)(RS)	594	15.6(14.7—16.5)	43.4	6.956(±0.79)	2.1

* 区分浓度为 0.04mg/L。

因此在米象的实验中还采用了敏感品系和抗性品系杂交子代的详细分离（见表 3，图 5）。图中曲线代表表型的频率分布，它们是根据各自的表型作为非积累频率分布表示的。反应曲线图形也同不完全隐性遗传结果相似。根据表 3 所列异质的混合种群各子代表型综合曲线的反应时间数据分析各种诱导分离的结果，可以认为隐性遗传是主要的决定因子。虽然由于子一代（F_1）的抗性程度不是很显著（抗性系数约为 2），使其诱导分离之间频率分布彼此重叠。但是，从图 4 中的曲线（F_2）上看来，似乎仍然表现出有两个不明显

表 3 米象对磷化氢抗性品系和敏感品系杂交的诱导分离

杂交	编号	性别 ♂	性别 ♀	反应时间分布范围(小时) $LT_{0.1}$	$LT_{15.87}$	LT_{50}	$LT_{84.13}$	$LT_{99.9}$	曲线斜率	抗性系数
亲本	1	S	S	2.0	4.9	7.6	11.7	28.9	5.315	—
	2	R	R	21.1	47.1	69.1	101.5	226.7	5.991	9.1
F_1	3	S	R	5.4	11.2	15.8	22.3	45.8	6.669	2.1
	4	R	S	5.6	11.2	15.6	21.7	43.4	6.956	2.1
F_2	5	F_1-3	F_1-3	0.4	3.8	11.2	33.2	321.7	2.118	1.5
	6	F_1-3	F_1-4	0.4	3.8	11.5	35.8	382.2	2.032	1.5
	7	F_1-4	F_1-3	0.4	3.7	11.2	33.8	337.8	2.089	1.5
	8	F_1-4	F_1-4	0.3	3.5	11.1	35.3	397.0	1.989	1.5
F_1-BC(回交)	9	S	F_1-3	2.2	6.0	9.7	16.7	42.6	4.813	1.3
	10	F_1-3	S	1.4	4.0	6.7	11.1	32.5	4.488	0.9
	11	R	F_1-3	2.8	15.3	34.4	77.2	419.5	2.844	4.5
	12	F_1-3	R	1.3	11.6	33.2	94.6	846.0	2.197	4.4
	13	S	F_1-4	1.1	4.0	7.5	14.0	52.0	3.675	1.0
	14	F_1-4	S	1.1	4.1	7.5	14.0	51.0	3.721	1.0
	15	R	F_1-4	3.5	16.8	35.9	76.5	372.8	3.040	4.7
	16	F_1-4	R	2.2	14.5	35.5	87.1	568.8	2.565	4.7
F_2-BC(回交)	17	10	10	0.7	3.8	8.3	18.4	97.1	2.895	1.1
	18	12	12	1.8	12.9	32.8	83.5	589.0	2.464	4.3
	19	14	14	0.4	2.4	6.0	14.8	97.4	2.552	0.8
	20	16	16	0.9	9.0	27.2	82.3	831.7	2.081	3.6

* 实验浓度为 0.04mg/L.

的拐点存在，因此，正如 Champ 在米象对 DDT 抗性遗传报告中所指出的那样，可能磷化氢主要是受隐性遗传因子所控制，但至少还有分离偏差和某种未决定的修饰因子存在。

讨 论

已经指出，害虫抗性的形成是个种群遗传问题。在抗性形成中主要是受到杀虫剂选择作用的影响。通过计算机模拟，证明抗性发展还将受到遗传因子，生物因子和操作因子的影响。但是，上述因子可以通过某些方法使抗性的选择作用消除到最小限度。这些方法是：

1. 降低或放松选择压力，阻止抗性种群密度发展。
2. 利用自然敏感种群迁入，稀释抗性基因。
3. 利用反向选择作用。

降低或放松选择压力，就是根据抗性显性度不同的结果，可以采用“低杀死”策略，或者采用“高杀死”策略，使能保持敏感个体同抗性个体的概率不发生很大的变化，或者引入适当数量的敏感个体稀释抗性基因，使 n 至 n + 1 代之间的基因频率相差不多，这样抗性才不易形成。上述策略对于抗性基因为隐性时稀释作用最为有效，但是抗性基因是显性时效果较差，因为不能杀死杂合子，使保留下来的抗性基因较多，稀释作用很小(张宗炳，

1988)。本研究结果可以基本肯定，在谷蠹和米象对磷化氢的抗性中，隐性遗传是主要的决定因子。根据杂交子代（SR 或 RS）的实验结果我们提出：如果采用"高杀死"策略，在 0.1mg/L 的剂量，并保持 100 小时的熏蒸密闭时间（CT 值为 10mg/L·h），将杂合子全部杀死。同时粮仓还是一个"半开放"的空间，随着新粮入库有一定数量的感性基因迁入的稀释作用，另外还可采取几种杀虫剂轮换，利用它们的反向选择作用，这样完全可能控制这两种害虫对磷化氢抗性的形成。

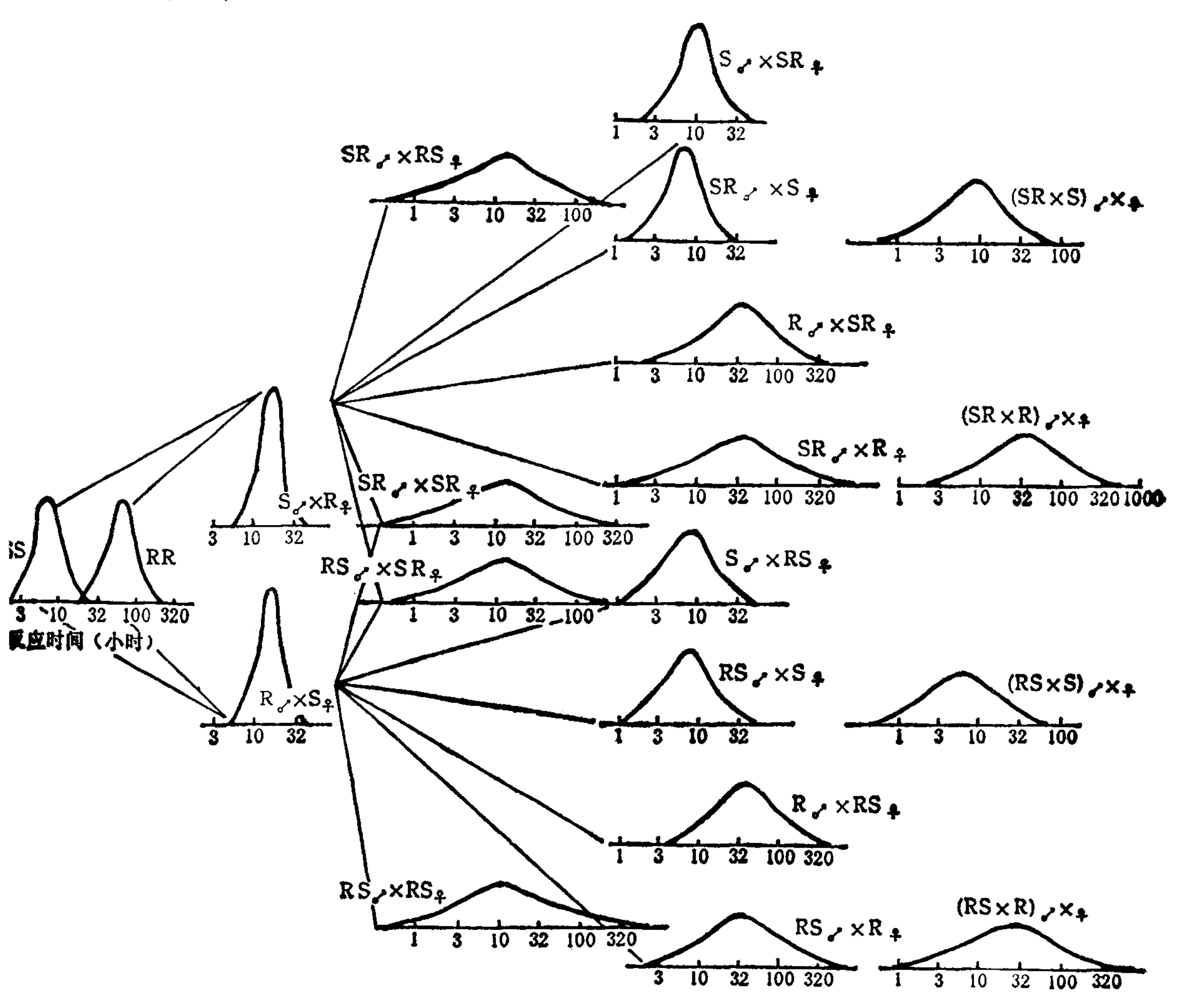


图 5　米象的磷化氢敏感品系和抗性品系杂交的 F_1、F_2 及其回交的诱导分离

参　考　文　献

张宗炳　1988　粮食害虫抗药性的治理对策。粮食储藏1：30—3。
李雁声等　1983　我国主要储粮害虫对常用杀虫剂抗性的考察。粮食储藏 6：1—12。
蒋中柱等　1990　三种扁谷盗成虫对磷化氢抗药性的研究报告。中国粮油学报2：33—40。
塚本增久　1963　杀虫剂的抗性遗传和剂量死亡率曲线。防虫科学(日)28：91—8。
Attia, F. I. et al. 1981 Inheritance of resistance to Malathion, DDT, Dieldrin in *Plodia interpunctella*. *J. Stored. Prod. Res.* 17(3):109—15.
Borah, B. et al. 1979 Development of resistance in *Trogoderma granarium* Evert to phosphine in the

Punjab. *FAO Plant Prot. Bull.* **27**:77—88.

Champ, B. R. 1967 The inheritance of DDT resistance in *Sitophilus oryzae* (L.) in Queensland. *J. Stored Prod. Res.* **3**:321—34.

Champ, B. R. 1969 Genetics of lindane resistance in *Tribolium castaneum* (Herbst). *J. Stored Prod. Res.* **5**:399—406.

Champ, B. R. 1985 Pesticide and humid tropical grain storage systems. ACIAR Proceedings No. 14 229—255.

Champ, B. R. & C. E. Dyte 1976 Report of the FAO global survey of pesticide susceptibility of stored grain pests. FAO Plant Production and Protection serice No. 5 Rome.

Collins, P. J. 1986 Genetic analysis of fenitrothion resistance in the sawtoothed grain beetle, *Oryzaephilus surinamensis*. *J. Econ. Ent.* **79**:1196—9.

Finney, D. J. 1952 Probit analysis. Cambridge Univ. London.

Georghiou, G. P. et al. 1977a Genetical and biological influences in the evolution of insecticide resistance. *J. Econ. Ent.* **70**(3):319—23.

Georghiou, G. P. et al. 1977b Operational influences in the evolution of insecticide resistance. *J. Econ. Ent.* **70**(5):653—8.

Halstead, D. G. H. 1963 External sex differences in stored products Coleoptera. *Bull. Ent. Res.* **54**:119—34.

Heather, N. W. 1986 Sex linked resistance to pyrethroids in *Sitopilus oryzae* (L.). *J. Stored Prod. Res.* **22**(1):15—20.

Price, N. R. 1985 Pesticides and humid tropical grain storage systems. ACIAR Proceedings No. 14. 203—210.

Taylor, R. W. O. 1989 Phosphine-A major grain fumigant at risk. *Intern. Pest Control* **31**(1) 10—4.

Tyler, P. S. et al. 1983 Insect resistance to phosphine fumigation in food warehouses in Bangladesh. *Intern. Pest Control* **25**(1) 10—3.

GENETIC ANALYSIS OF PHOSPHINE RESISTANCE IN *RHYZOPERTHA DOMINICA* AND *SITOPHILUS ORYZAE*

Li Yan-sheng Li Wen-zhi Li Wan-wu Wu Xiu-qiong

(*Chengdu Institute of Grain Storage Research, Ministry of Internal Trade, Chengdu* 610031)

Genetic studies were carried out on susceptible laboratory strains and field resistant strains of *Rhyzopertha dominica* and *Sitophilus oryzae*. Dose-mortality characteristics of susceptible and resistants parents and their F_1 hybrids, F_2-backcross progeny and F_2 mass cross progeny were assessed in order to determine inheritance character. Results indicated that the reaction of F_1 hybrid to phosphine was closer to its susceptible parent strain; x^2 analysis of the responses observed of F_1-backcross and F_2 progeny rejected the null hypothesis of monogenic inheritance for resistance. The inheritance of phosphine resistance in the two species was more complex and the resistance appears to be controlled by one or more autosomal factors but the major gene involved are incompletely recessive. Degrees of dominace (*D*) are-0.768 for *R. dominica and*-0.348 for *S. aryzae*.

Key words *Rhyzopertha dominica*——*Sitophilus oryzae*——phosphine——insecticide resistance genetics